击倒抗性和钠离子通道

王建军，韩召军，王荫长
（南京农业大学植物保护系，农业部病虫监测与治理重点开放实验室，南京　210095）

摘要：综述了击倒抗性与钠离子通道关系的研究进展。毒理学和电生理学的研究表明，在许多拟除虫菊酯类杀虫剂抗性昆虫中存在击倒抗性。分子遗传学研究进一步发现，击倒抗性与钠离子通道位点连锁。最近的研究表明，昆虫神经系统对拟除虫菊酯类杀虫剂敏感性下降的击倒抗性机制是钠离子通道结构基因突变。但仍有一些问题，如突变的保守性和分布，需要进一步研究、阐明。

关键词：昆虫神经系统；拟除虫菊酯类杀虫剂；击倒抗性；钠离子通道
中图分类号：Q965　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296（2002）03-0391-06

Knockdown resistance and sodium channel

WANG Jian-Jun，HAN Zhao-Jun，WANG Yin-Chang（Key Laboratory of Monitoring and Management of Plant Diseases and Insects of Agricultural Ministry，Nanjing Agriculture University，Nanjing　210095，China）

Abstract: This paper reviews the current progress of the relationship between *Kdr*-type resistance and sodium channel. Toxicological and electrophysiological studies have demonstrated the presence of *Kdr*-type resistance in many pyrethroid-resistant insects. Molecular genetic evidence has been presented that *Kdr*-type resistance is linked to a sodium channel locus in many pyrethroid-resistant insects. Moreover，a number of recent studies have already demonstrated that several mutations in structure gene of sodium channel are associated with *Kdr*-type resistance，which is thought to be the mechanism of reduced sensitivity of the insect nervous system to pyrethroid insecticides. However，several problems，such as the conservation and distribution of point mutation，remain to be clarified.

Key words: insect nerve system；pyrethroids；*Kdr*-type resistance；sodium channel

拟除虫菊酯类杀虫剂具有高效、低毒、环境中易于分解的特点，广泛应用于防治多种农业、卫生害虫。随着菊酯类杀虫剂的大量推广使用，其抗药性问题日益突出，至1990年，至少已有50种害虫和螨类对菊酯类杀虫剂产生了抗性（Molberg，1990）。昆虫对菊酯类和DDT产生抗性的一个重要机制称为击倒抗性（knockdown resistance），其特征是昆虫神经系统对这些化合物的敏感性下降（张友军和张文吉，1996）。

拟除虫菊酯类杀虫剂和DTT的主要作用靶标是神经细胞膜电压—敏感钠离子通道（唐振华和李卫明，1996）。昆虫神经系统对拟除虫菊酯类杀虫剂的敏感性下降主要与神经细胞膜上钠离子通道的敏感性降低有关。本文中我们主要介绍近年来对击倒抗性和钠离子通道的研究进展。

1　击倒抗性基因型抗性

神经敏感度降低是昆虫对拟除虫菊酯类杀虫剂和DDT产生抗性的一个主要机制。这种抗性首先在家蝇 *Musca domestica* 成虫中观察到，表现为抗DDT和拟除虫菊酯类杀虫剂的快速麻痹（击倒）和毒杀作用（Busvine，1951）。Milani（1954）对其进行了遗传学分离，认为控制此抗性的基因位于家蝇第Ⅲ染色体上，为一隐性的击倒抗性基因（knockdown resistance gene，*Kdr*），并把此抗性称为“击倒抗性”。已经分离了几个家蝇 *Kdr* 的等位基因，包括具有更高抗性的超击倒抗性基因（超-*Kdr*）（Sawicki，1978；Farnham *et al*.，1987），*Kdr* 和超-*Kdr* 表现型在幼虫和成虫期均被表达（Bloomquist and Miller，1985；Pepper and Osborne，1993）。电生

基金项目：973 国家重点基础研究项目（J200016207），江苏省95重点攻关课题（BE96370）
第一作者简介：王建军，男，1970年1月生，汉族，江苏海安人，博士，现在扬州大学农学院植保系工作，研究方向为害虫抗药性和杀虫剂毒理，E-mail：phdwjj@hotmail.com
收稿日期 Received：2000-03-16；接受日期 Accepted：2000-11-01

理方法是研究神经不敏感性程度最直接有效的方法。具有 *Kdr* 型抗性的家蝇成虫的中央神经系统对拟除虫菊酯类杀虫剂的敏感性比敏感家蝇低得多（Tsukamoto *et al*.，1965）。除了家蝇外，通过增效试验、代谢抗性研究、对 DDT 和拟除虫菊酯类杀虫剂的交互抗性测定等间接方法和电生理学研究等直接方法，证实具有 *Kdr* 型抗性的昆虫还有斯氏按蚊 *Anopheles stephensi*、德国蜚蠊 *Blattella germanica*、微小牛蜱 *Boophilus microplus*、烟芽夜蛾 *Heliothis virescens*、小菜蛾 *Plutella xylostella*、埃及伊蚊 *Aedes aegipti*、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*、伪钝绥螨 *Amblyseius fallacis*、棉蚜 *Aphis gossypii*、棉铃虫 *Helicoverpa armigera*、马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata*（*Ahmad et al*.，1989；唐振华，1993；韩召军等，1995；Argentine *et al*.，1995）。

随着分子生物学技术和方法在害虫抗性研究中的应用，可以推断，还有一些以前认为是解毒代谢增强的拟除虫菊酯类杀虫剂代谢抗性，事实上主要是 *Kdr* 型抗性，如长期以来一直认为桃蚜对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性机制是杀虫剂解毒酯酶 E4 和 FE4 的扩增。最近的研究表明，几个具有 E4 酯酶扩增的桃蚜品系对拟除虫菊酯类杀虫剂和 DDT 的抗性主要与钠离子通道的氨基酸突变相关（Martinez-Torres *et al*.，1999）。

2 拟除虫菊酯类杀虫剂与钠离子通道

拟除虫菊酯类杀虫剂可与许多膜蛋白相互作用，其中包括钠离子通道、受体、ATP 酶、G 蛋白和蛋白激酶。神经生理研究已证实，拟除虫菊酯类杀虫剂的主要作用靶标是神经细胞膜上钠离子通道，干扰钠离子通道的门控动力学，在膜去极化期间减缓失活，延长钠离子电流，引起重复后放和神经传导的阻断（唐振华和李卫明，1996）。Salgado 等（1983a，1983b）报道，Ⅰ型拟除虫菊酯类杀虫剂通过对负后电位的加强引起重复后放，Ⅱ型拟除虫菊酯类杀虫剂则引起微小兴奋性突触后电位的提高，表明神经末端的去极化是其毒杀作用的重要机制。然而在家蝇和鳞翅目昆虫中，发现Ⅱ型拟除虫菊酯类杀虫剂也能引起重复后放（Gibson *et al*.，1988；McCaffery *et al*.，1995）。最近的研究则发现，尽管拟除虫菊酯类杀虫剂引起的重复后放与其击倒作用具有很好的相关性，与其毒杀作用的相关性却不大，表明家蝇的 *Kdr* 型抗性至少与神经系统两个不敏感位点有关，一个是钠离子通道的不敏感性，在 *Kdr* 型和超-*Kdr* 型抗性品系中，钠离子通道对Ⅰ型和Ⅱ型拟除虫菊酯类杀虫剂的不敏感性相似，另外一个则与前突触末端相关，特别表现在超-*Kdr* 品系对Ⅱ型拟除虫菊酯类杀虫剂的不敏感性，后者可能与 Ca^{2+} 激活参与神经递质释放的蛋白的磷酸化有关（Pepper and Osborne，1993）。

3 钠离子通道的分子生物学

Catterall（1986）首先从电鳗、鼠脑和肌肉中分离纯化了钠离子通道。分子生物学研究表明，钠离子通道由一个大分子糖化 α 亚基和两个小分子的 β 亚基（β_1 和 β_2）组成，其中 α 亚基是钠离子通道最基本的结构和功能单位。钠离子通道 α 亚基包括4个相似的多肽区（Ⅰ～Ⅳ），称为相似区。每个相似区又由6个氨基酸序列组成跨膜结构 S1～S6，居中的 S4 带正电荷，是钠离子通道膜电位的传感器和激活门。在无脊椎动物中则由 α 亚基单位组成。α 亚基单位大约由 2 000 个氨基酸组成，分子量在不同动物之间差别不大。

根据与电鳗钠离子通道基因的结构相似性，Salkoff 等（1987）用电鳗 cDNA 探针从果蝇 *Drosophila melanogaster* 中分离到了一个钠离子通道基因 DSC 1，它与脊椎动物钠离子通道一样，含有4个相似区，每个相似区由6个跨膜片段组成。Loughney 等（1989）则分离到了第二个钠离子通道基因 para，该基因位于 X 染色体上，编码钠离子通道基因的 α 亚基。Ramaswami 等用鼠脑钠离子通道 cDNA 探针，从果蝇中分离到了 *DSC* 1 和 *para* 两个不同的钠离子通道基因（Ramaswami and Tanouye，1989）。在其它昆虫上，利用 PCR 技术，从家蝇（Knipple *et al*.，1991）、烟芽夜蛾、埃及伊蚊、小菜蛾、舞毒蛾 *Lymantria dispar*、粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni*、美洲大蠊 *Periplaneta americana* 和二点叶螨 *Tetranyehus urticae*（Doyle and Knipple，1991）中相继分离到了类似 *para* 的钠离子通道基因。这些研究表明，昆虫钠离子通道基因核苷酸序列不仅在节肢动物之间高度同源，而且与哺乳动物和无脊椎动物钠离子通道基因核苷酸序列也高度同源。

4 钠离子通道基因与击倒抗性的遗传连锁

为进一步从分子遗传学水平了解钠离子通道与

Kdr 抗性的关系，Williamson 等用编码果蝇钠离子通道 *para* 基因的一段 cDNA 片段（P15）作探针，筛选家蝇成虫头部 cDNA 文库，获得 2 070 bp 的 pSCP 2 片段，并命名为 Msc 基因。以该片段为探针对敏感品系和 *kdr*、超-*kdr* 品系纯合子的 DNA 印迹法研究发现，这 3 种品系的限制性酶切片段存在多态性，敏感、kdr 品系各有两个 *EcoR* Ⅰ片段，但两品系间片段长度不同，分别为 3.0 和 8.8 kb（敏感）、3.4 和 6.0 kb（*Kdr*）；超-*Kdr* 品系则存在 4 个片段，长度分别为 5.7、6.5、15.5 和大于 20 kb。使用 *EcoR* Ⅰ RFLPs 作为分子标记，对敏感品系和抗性品系回交后代的印迹法分析表明，*Msc* 基因和抗性紧密连锁（Williamson *et al*.，1993）。

Knipple 等（1994）根据 para 基因 IS 5～6 区域的保守序列设计简并引物，PCR 扩增家蝇敏感品系基因组 DNA，以扩增所得的片段作为探针筛库，获得一个 4.4 kb *Eco*R Ⅰ片段。根据测序结果，设计第二对引物，将扩增片段用 *Xba* Ⅰ酶切，使用这些 PCR/RFLP 分子标记进行遗传连锁分析表明，家蝇中 *para* 同源钠离子通道基因与 *Kdr* 性状紧密连锁，*para*、*Kdr* 位于同一个染色体上约一个图距（map unit）。

Dong 和 Scott（1994）从德国蜚蠊中分离到了一个 120 bp 的 *para* 同源钠离子通道基因片段，对 F2 和回交个体钠离子通道基因的 RFLP 分析表明，全部纯合子 R 个体都含有一个 3.7 kb 的 *EcoR* Ⅰ片段，全部纯合子 S 个体都含有一个 3.0 kb 的 *EcoR* Ⅰ片段，全部杂合子个体都含有 3.7 kb 和 3.0 kb 的 *EcoR* Ⅰ片段，表明 *Kdr* 型抗性位点与 *para* 同源钠离子通道基因紧密连锁。

在农业害虫方面，Taylor 等（1993）根据果蝇 *para* 基因第 4 跨膜区域的氨基酸序列设计引物，从烟芽夜蛾基因组文库中 PCR 扩增出 184 bp 的钠离子通道片段基因。用该片段筛库获得一个约 8 kb 的基因组克隆 *hscp* 1，遗传连锁研究表明，*Kdr* 型抗性与烟芽夜蛾钠离子通道 *para* 同源基因 *hscp* 连锁（Taylor *et al*.，1993）。

5 击倒抗性生化和分子机理

目前对 *Kdr* 抗性的机理有 3 种假说，第一个假说由 Chiang 和 Devonshire（1982）提出，认为神经膜流动性的改变与 *Kdr* 抗性有紧密的联系。尽管他们的研究表明神经膜的流动性与抗性有紧密的联系，却不能解释其因果关系。第二个假说认为神经膜中钠离子通道密度的减少降低了神经敏感性。这已在果蝇突变 nap^{ts} 品系（无动作电位，温度敏感型）中证实，钠离子通道密度的减少延缓了击倒作用，以致有足够长的时间供解毒机制起作用，最终引起了低水平的抗性（Kasbekar and Hall，1988；Bloompuist *et al*.，1989）。在家蝇中利用放射性标记的钠离子通道部位Ⅰ药物［^{3}H］石房哈毒素（saxitoxin）与敏感和 *Kdr* 型抗性家蝇脑质膜的结合，发现 *Kdr* 型家蝇的钠离子通道量下降了 40%～60%（Rossignol，1988）。但其它研究却发现，*Kdr* 型抗性家蝇和敏感家蝇的钠离子通道密度差异很小或没有差异（Grubs *et al*.，1988；Pauron *et al*.，1989）。在烟芽夜蛾和蜚蠊中也发现，*Kdr* 型抗性品系的钠离子通道密度与敏感品系相比没有差异或差异很小（Dong and Scott，1991；Church and Knowles，1992）。第三个假说认为 *Kdr* 家蝇中神经敏感性的变化是由于钠离子通道的结构变化引起，钠离子通道有选择地改变杀虫剂的结合部位，降低了钠离子通道对拟除虫菊酯类杀虫剂的亲和力（Salgado *et al*.，1983a，1983b）。这已经通过药理学实验得到间接证实（Pauron *et al*.，1989）。

近年来，随着昆虫分子生物学技术的发展，对多种昆虫敏感和 *Kdr* 抗性品系 *para* 同源基因进行了分子克隆，表明 *Kdr* 抗性与钠离子通道氨基酸突变密切相关。对 5 个目 7 种昆虫（双翅目：家蝇 *Musca domestica*、西方角蝇 *Haematobia irritans* 和按蚊 *Anopheles gambiae*；蜚蠊目：德国蜚蠊 *Blattella germanica*；鳞翅目：小菜蛾 *Plutella xylostella*；同翅目：烟蚜 *Myzus persicae*；鞘翅目：马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata*）的研究发现，钠离子通道相似区Ⅱ的 S6 跨膜片段上的单氨基酸突变（Leu 到 Phe）与 *Kdr* 型抗性相关（Williamson *et al*.，1996；Guerrero *et al*.，1997；Martinez-Torres *et al*.，1998；Miyazaki *et al*.，1996；Dong，1997；Schuler *et al*.，1998；王建军等，2000；Martinez-Torres *et al*.，1999；Lee *et al*.，1999）。对烟芽夜蛾的 *para* 同源基因 *hscp* 的克隆测序发现，相应位点的 Leu 到 His 突变与其对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性相关（Park and Taylor，1997）。而利用钠离子通道相似区Ⅱ的保守序列作为简并引物，对 5 个目 8 种昆虫敏感品系钠离子通道基因相似区Ⅱ的 PCR 扩增则表明，所有 8 种昆虫 *para* 同源钠离子通道氨基酸序列在与 *Kdr* 和超-*Kdr* 抗性家蝇突变相对应的位点都是

Leu 和 Met 残基（Martinez-Torres *et al*., 1997）。Smith 等（1997）对家蝇野生型和 L1014F 突变型钠离子通道基因 *Vssc*1 的异质功能表达研究进一步表明，在爪蟾 *Xenopus laevis* 卵母细胞中表达的突变型钠离子通道对拟除虫菊酯类杀虫剂顺式苄呋菊酯（cismethrin）的抗性提高了至少 10 倍。所有这些研究表明，ⅡS 6 Leu 残基的突变可引起 *Kdr* 型神经不敏感性表现型，ⅡS 6 是拟除虫菊酯类杀虫剂作用于钠离子通道的一个关键功能位点。而这一区域的其他一些次要突变可能进一步提高了对拟除虫菊酯类杀虫剂的 *Kdr* 抗性水平，如在家蝇和角蝇的超-*Kdr* 型抗性品系的Ⅱ S 4～5 细胞内片段接头处的 Met 到 Thr 突变。由于目前只对数种 *Kdr* 型抗性品系昆虫的钠离子通道进行了分子研究，在其他种类和品系中可能还存在与 *Kdr* 型抗性相关的新突变。另一方面，以前的研究都集中于 *para* 同源钠离子通道基因相似区Ⅱ的突变，而对钠离子通道基因其他区域的突变与 *Kdr* 型抗性的关系却研究甚少。对变构钠离子通道的定点诱变（site-directed mutagenesis）和表达研究已表明，钠离子通道相似区Ⅲ和Ⅳ的细胞内片段接头在钠离子通道的失活中起着重要作用（Moorman *et al*., 1990）。而拟除虫菊酯类杀虫剂主要通过减缓钠离子通道的失活发挥其神经毒理作用，因而，钠离子通道相似区Ⅲ和Ⅳ的细胞内片段接头很可能是导致拟除虫菊酯类杀虫剂对钠离子通道结合力降低，进而引起神经不敏感型抗性的一个潜在突变位点。最近，在棉铃虫和烟芽夜蛾的 *Kdr* 型抗性品系中，鉴定了位于钠离子通道相似区Ⅲ和Ⅳ的细胞内片段接头处的两个氨基酸突变（Asp 到 Val，Glu 到 Gly），这两个氨基酸突变导致了 *para* 型钠离子通道两个负电荷的净损失，可能影响了蛋白质的构象，减低了钠离子通道与拟除虫菊酯类杀虫剂的结合能力，从而在表达神经不敏感型抗性中起着重要作用（Head *et al*., 1998）。这表明在不同的昆虫中，*Kdr* 型抗性可能与钠离子通道多个区域的氨基酸突变有关，这些突变的不同组合引起了不同水平的神经不敏感型抗性。

6 击倒抗性的分子检测

Kdr 型抗性机理的分子水平的研究推动了害虫抗药性的分子生物学检测技术的发展。专一性等位基因特异性分析（PASA，PCR amplification of specific alleles，也称为 AS-PCR，allele-specific PCR）技术就是其中一种比较简单易行和准确的方法。分别在一端设计两条野生型或突变型引物，突变型引物的突变碱基设计在引物的3′端，另一端设计一条共同引物。利用 *Taq* 酶缺乏 3′→5′外切酶活性的特点，在以突变型引物扩增正常 DNA 模板时，在其 3′端就形成了错配，延伸反应就会因磷酸酯键难于形成而不能进行，也就得不到特异长度的条带，从而表明模板 DNA 无此突变；如果 PCR 结果能得到特异长度扩增条带，表明模板 DNA 上具有与引物 3′碱基相对应的突变。若将野生型和突变型引物分别用于同一 DNA 模板的扩增，即可根据扩增片段的凝胶电泳直接诊断出有无某种基因突变。与限制性内切酶片段长度多态性分析技术（RFLP）和单链构型多态性分析技术（SSCP）等其它分子生物学检测方法相比，PASA 技术省去了任何形式的 DNA 探针分子杂交或限制性内切酶酶切，也不需要标记引物。与传统的生物测定相比，PASA 技术能区分表现型相同而基因型不同的杂合子和敏感纯合子，因而能检测很低的抗性基因频率，为抗性早期治理提供理论指导。根据与 *Kdr* 型抗性相关的已知突变碱基和位点，设计特异性引物，运用 PASA 技术已成功检测了按蚊、角蝇田间种群的 *Kdr* 型抗性等位基因频率（Martinez-Torres *et al*., 1998；Jamroz et al., 1998）。

7 展望

从以上 *Kdr* 型抗性的研究现况来看，尚有以下问题需要加以研究：

（1）钠离子通道相似区Ⅱ的 S6 跨膜片段上的 Leu 突变是否存在于所有具有 *Kdr* 型抗性的昆虫中？即该突变是否具有保守性？

（2）除了棉铃虫和烟芽夜蛾的其它昆虫 *Kdr* 型抗性品系中，钠离子通道相似区Ⅲ和Ⅳ的细胞内片段接头处及离子通道其它区域是否也存在与 *Kdr* 型抗性相关的氨基酸突变？

（3）如果 *Kdr* 抗性与钠离子通道多个氨基酸突变相关，则各个突变对 *Kdr* 型抗性的贡献如何？是否存在主基因效应？

（4）除了钠离子通道的点突变外，钠离子通道基因的表达是否也参与了 *Kdr* 型抗性？

（5）如何利用 PASA 技术及其它分子生物学技术检测重要农业害虫 *Kdr* 型抗性及指导抗性治理？

分子生物学技术的日益完善极大地推动了在分

子水平对生命现象本质的研究和认识。随着分子生物学技术在昆虫研究领域的应用和昆虫分子生物学的发展，相信在不远的将来，以上问题一定会得到圆满的解决。

参 考 文 献 （References）

Ahmad M，Gladwell R T，McCaffery A R，1989. Decreased nerve sensitivity is a mechanism of resistance in a pyrethroid resistant strain of *Heliothis armigera* from Thailand. *Pestic. Biochem. Physiol.*，35：165－171.

Argentine J A，Lee S H，Sos M A，Barry S R，Clark J M，1995. Permethrin resistance in a near isogenic strain of Colorado potato bettle. *Pestic. Biochem. Physiol.*，53：97－115.

Bloomquist J R，Miller T A，1985. A simple bioassay for detecting and characterizing insecticide resistance. *Pestic. Sci.*，16：611－614.

Bloompuist J R，Soderlund D M，Knipple D C，1989. Knockdown resistance to dichlorodiphenyltrichloroethane and pyrethroid insecticides in the nap^{ts} mutant of *Drosophila melanogaster* is correlated with reduced neuronal sensitivity. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*，10：293－302.

Busvine J R，1951. Mechanism of resistance to insecticides in houseflies. *Nature*，168：193－195.

Catterall W A，1986. Molecular properties of voltage-sensitive sodium channels. *Ann. Rev. Biochem.*，55：953－985.

Chiang C，Devonshire A L，1982. Changes in membrane phospholipids，identified by Arrhenius plots of acetylcholinesterase and associated with pyrothroid resistance（*kdr*）in house flies（*Musca domestica*）. *Pestic. Sci.*，13：156－160.

Church，C J，Knowles C O，1992. Saxitoxin binding to neural membranes from pyrethroid susceptible and resistant tobacco budworm moths *Heliothos virescens*. *Comp. Biochem. Physoil.*，103C：495－498.

Dong K，1997. A single amino acid change in the *para* sodium protein is associated with knockdown-resistance（*kdr*）to pyrethroid insecticides in the German cockroach. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，27：93－100.

Dong K，Scott J G，1991. Neuropharmacoology and genetics of the *kdr*-type resistance in the German cockroach，*Blatella germanica*（L.）. *Pestic. Biochem. Physiol.*，41：159－169.

Dong K，Scott J G，1994. Linkage of *kdr*-type resistance and the *para*-homologous sodium channel gene in German cockroaches（*Blattella germanica*）. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，24：647－654.

Doyle K E，Knipple D C，1991. PCR-based phylogenetic walking：isolation of *para*-homologous gene sequences from seven insect species and an arachnid. *Insect Biochem.*，21：689－696.

Farnham A W，Murray A W A，Sawicki R M，Denholm I，White J C，1987. Characterization of the structure-activity relationship of *kdr* and two variants of super-*kdr* to pyrethroids in the housefly（*Musca domestica*）. *Pestic. Sci.*，19：209－220.

Gibson A J，Osborn M P，Ross H F，Sawicki R M，1988. An electrophysiological investigation of the susceptible（Cooper）and resistant（*kdr*，super-*kdr*）strains of the adult housefly，*Musca domestica L. Pestic. Sci.*，23：283－292.

Grubs R E，Adams P M，Soderlund D M，1988. Binding of［^{3}H］saxitoxin to head membrane preparations from susceptible and knockdown-resistant houseflies. *Pestic. Biochem. Physiol.*，32：217－223.

Guerrero F D，Jamroz R C，Kammlah D，Kunz S E，1997. Toxicological and molecular characterization of pyrethroid- resistant horn flies，*Haematobia irritans*：Identification of *kdr* and super-*kdr* point mutations. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，27：745－755.

Han Z J，Wang Y C，You Z P，1995. Mechanism of pyrethroid resistance in cotton aphid（*Aphis gossypii* Glover）. *J. Nanjing Agric. Univ.*，18（3）：54－59.［韩召军，王荫长，尤子平，1995. 棉蚜对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性机理. 南京农业大学学报，18（3）：54－59］.

Head D J，McCaffery A R，Callaghan A，1998. Novel mutations in the *para*-homologous sodium channel gene associated with phenotypic expression of nerve insensitivity resistance to pyrethroids in Heliothine lepidoptera. *Insect Mol. Biol.*，7（2）：191－196.

Jamroz R C，Guerrero F D，Kammlah D M，Kunz S E，1998. Role of the kdr and super-kdr sodium channel mutations in pyrethroid resistance：correlation of allelic frequency to resistance level in wild and laboratory populations of horn flies（*Haematobia irritans*）. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，28：1 031－1 037.

Kasbekar D P，Hall L M，1988. A *Drosophila* mutation that reduces sodium channel number confers resistance to pyrethroid insecticides. *Pestic. Biochem. Physiol.*，32（2）：135－145.

Knipple D C，Doyle K E，Marsella-Herrick P A，Soderlund D M，1994. Tight genetic linkage between the *kdr* insecticide resistance trait and a voltage-sensitive sodium channel gene in the house fly. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，91：2 483－2 487.

Knipple D C，Payne L L，Soderlund D M，1991. PCR-generated sodium channel gene probe for the housefly. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*，16：45－53.

Lee S H，Dunn J B，Clark J M，Soderlund D M，1999. Molecular analysis of *kdr*-like resistance in a permethrin-resistant strain of Colorado bettle. *Pestic. Biochem. Physiol.*，63：63－75.

Loughney K，Kreber R，Ganetzky B，1989. Molecular analysis of the *para* locus，a sodium channel gene in *Drosophila*. *Cell*，58：1 143－1 154.

Martinez-Torres D，Chandre F，Williamson M S，Darriet F，Berge J B，Devonshire A L，Guillet P，Pasteur N，Pauron D，1998. Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance（*kdr*）in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s. s. *Insect Mol. Biol.*，7（2）：179－184.

Martinez-Torres D，Devonshire A L，Williamson M S，1997. Molecular studies of knockdown resistance to pyrethroid：cloning of domain II sodium channel gene sequences from insects. *Pestic. Sci.*，51：265－270.

Martinez-Torres D，Foster S P，Field L M，Devonshire A L，Williamson M S，1999. A sodium channel point mutation is associated with resistance to DDT and pyrethroid insecticides in the Peach-potato aphid，*Myzus persicae*（Sulzer）（Hemiptera：Aphididae）. *Insect Mol. Biol.*，8（3）：339－346.

McCaffery A R，Holloway J W，Gladwell R T，1995. Nerve insensitivity resistance to cypermethrin in larvae of the tobacco budworm *Heliothis virescens* from USA cotton field populations. *Pestic. Sci.*，44：237－

247.

Milani R, 1954. Comportamento mendeliano della resistenza alla azione abbattante del DDT: correlazione tran abbattimento e mortalia in *Musca domestica* L. *Riv. Parasitol.*, 15: 513–542.

Miyazaki M, Ohyama K, Dunlap D Y, Matsumura F, 1996. Cloning and sequencing of the *para*-type sodium channel gene from susceptible and *kdr*-resistant German cockroaches (*Blattella germanica*) and house fly (*Musca domestica*). *Mol. Gen. Genet.*, 252: 61–68.

Molberg W K, 1990. Understanding and combating agrochemical resistance. In: Green M B, Lebaron H M, Moberg M K eds. Managing Resistance to Agrochemicals. Washington: American Chemical Society. 1–15.

Moorman J R, Kirsch G E, Brown A M, Joho R H, 1990. Changes in sodium channel gating produced by point mutations in a cytoplasmic linker. *Science*, 250: 688–691.

Park Y, Taylor M F J, 1997. A novel mutation L1029H in sodium channel gene *hscp* associated with pyrethroid resistance for *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 27: 9–13.

Pauron D, Barhanin J, Amichot M, Pralavorio M, Berge J B, Lazdunski M, 1989. Pyrethroid receptor in the insect Na^+ channel: alteration of site properties in pyrethroid-resistant flies. *Biochemistry*, 28: 1 673–1 677.

Pepper D R, Osborne M P, 1993. Electrophysiological identification of site-insensitive mechanisma in knockdown resistant strains (*kdr*, super-*kdr*) of the housefly larva (*Musca domestica*). *Pestic. Sci.*, 39: 279–286.

Ramaswami M, Tanouye M A, 1989. Two sodium-channel genes in *Drosophila*: Implications for channel diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 86: 2 079–2 082.

Rossignol D P, 1988. Reduction in the number of nerve membrane sodium channels in pyrethroid resistant houseflies. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 32: 146–152.

Salgado V L, Irving S N, Miller T A, 1983a. Depolarization of motor nerve terminals by pyrethroids in susceptible and *kdr*-resiatant houseflies. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 20: 100–114.

Salgado V L, Irving S N, Miller T A, 1983b. The importance of nerve terminal depolarization in pyrethroid poisoning of insects. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 20: 169–182.

Salkoff L, Butler A, Wei A, Scavarda N, Giffen K, Ifune C, Goodman R, Mandel G, 1987. Genomic organization and deduced amino acid sequence of a putative sodium channel gene in *Drosophila*. *Science*, 237: 744–749.

Sawicki R M, 1978. Unusual response of DDT-resistant houseflies to carbinol analogues of DDT. *Nature*, 275: 443–444.

Schuler T H, Martinez-Torres D, Thompson A J, Denholm I, Devonshire A L, Duce I R, Williamson M S, 1998. Toxicological, electrophysiological, and molecular characterization of knockdown resistance to pyrethroid insecticides in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 59: 169–182.

Smith T J, Lee S H, Ingles P J, Knipple D C, Soderlund D M, 1997. The L1014F point mutation in the house fly *Vssci* sodium channel confers knockdown resistance to pyrethroids. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 27: 807–812.

Tang Z H, 1993. Insect Resistance. Beijing: China Agricultural Press. 302–335. [唐振华, 1993. 昆虫抗药性. 北京: 中国农业出版社. 302–335]

Tang Z H, Li W M, 1996. Molecular biology of resistance evolution in insects. In: Leng X F, Tang Z H, Wang Y C eds. Molecular Toxicology of Insecticides and Insect Resistance. Beijing: Chinese Agricultural Press. 132–147. [唐振华, 李卫明, 1996. 昆虫抗药性演化的分子生物学. 见: 冷欣夫, 唐振华, 王荫长 主编. 杀虫药剂分子毒理学及昆虫抗药性. 北京: 中国农业出版社. 132–147]

Taylor M F, Heckel D G, Brown T M, Kreitman M E, Black B, 1993. Linkage of pyrethroid insecticide resistance to a sodium channel locus in the tobacco budworm. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 7: 763–775.

Tsukamoto M, Narahashi T, Yamasaki T, 1965. Genetic control of low nerve sensitivity to DTT in insecticide-resistant house flies. *Botyu-Kagaku.*, 30: 128–132.

Wang J J, Han Z J, Wang Y C, 2000. cDNA fragment cloning of sodium channel gene in resistant diamondback moth, *Plutella xylostella* (L). In: Li D M ed. Advancing of Chinese Entomology Towards 21st Century. Beijing: Chinese Scientech Press. 326–328. [王建军, 韩召军, 王荫长, 2000. 抗性小菜蛾钠离子通道 cDNA 片段的克隆. 见: 李典谟主编. 走向二十一世纪的中国昆虫学. 北京: 中国科学技术出版社. 326–328]

Williamson M S, Denholm I, Bell C A, Devonshire A L, 1993. Knockdown resistance (*kdr*) to DDT and pyrethroid insecticides maps to a sodium channel gene locus in the housefly (*Musca domestica*). *Mol. Gen. Genet.*, 240: 17–22.

Williamson M S, Martinez-Torres D, Hick C A, Devonshire A L, 1996. Identification of mutations in the housefly *para*-type sodium channel gene associated with knockdown resistance (*kdr*) to pyrethroid insecticides. *Mol. Gen. Genet.*, 252: 51–60.

Zhang Y J, Zhang W J, 1996. Molecular mechanisms of knock-down resistance. *Entomol. Knowl.*, 33 (1): 49–52. [张友军, 张文吉, 1996. 击倒抗性 (*Kdr*) 的分子机理. 昆虫知识, 33 (1): 49–52]